

Versuche die Überlebenszeiten fetaler
Kalbshauttransplantate durch Inkubation
mit Nukleinsäuren zu verlängern

Ute Wiechers

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE FORSCHUNG

Vorstand: Prof. Dr. Dr. W. Brendel) an der Chirurgischen Klinik

Direktor: Prof. Dr. G. Heberer) der Universität München

Versuche die Überlebenszeiten fetaler
Kalbshauttransplantate durch Inkuba-
tion mit Nukleinsäuren zu verlängern.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Ute Wiechers

aus

Bevensen

München 1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der Mündlichen Prüfung: 31.01.1978



1. Einleitung	Seite 1
2. Die Bedeutung der Musik	Seite 2
3. Die Entwicklung der Musik	Seite 3
4. Die Musik in der Gegenwart	Seite 4
5. Die Musik in der Zukunft	Seite 5
6. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 6
7. Die Musik in der Gegenwart	Seite 7
8. Die Musik in der Zukunft	Seite 8
9. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 9
10. Die Musik in der Gegenwart	Seite 10

Meiner Mutter

1. Die Bedeutung der Musik	Seite 1
2. Die Entwicklung der Musik	Seite 2
3. Die Musik in der Gegenwart	Seite 3
4. Die Musik in der Zukunft	Seite 4
5. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 5
6. Die Musik in der Gegenwart	Seite 6
7. Die Musik in der Zukunft	Seite 7
8. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 8
9. Die Musik in der Gegenwart	Seite 9
10. Die Musik in der Zukunft	Seite 10
11. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 11
12. Die Musik in der Gegenwart	Seite 12
13. Die Musik in der Zukunft	Seite 13
14. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 14
15. Die Musik in der Gegenwart	Seite 15
16. Die Musik in der Zukunft	Seite 16
17. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 17
18. Die Musik in der Gegenwart	Seite 18
19. Die Musik in der Zukunft	Seite 19
20. Die Musik in der Vergangenheit	Seite 20

A) EINLEITUNG	Seite 1
HISTORISCHER ÜBERBLICK	Seite 1
1. Allotransplantate	Seite 1
2. Verwendung von Antilymphozyten- globulin zur Immunsuppression bei Schwerstverbrannten	Seite 2
3. Schweinehaut	Seite 3
4. Kollagenfolien	Seite 3
5. Fetale Kalbshaut	Seite 4
B) MATERIAL UND METHODIK	Seite 7
1. Versuchstiere	Seite 7
2. Gewinnung der fetalen Kalbshaut	Seite 7
3. Gewinnung der Nukleinsäuren	Seite 7
4. Testung der Aufnahme von Nukleinsäuren in die Haut	Seite 9
5. Makroskopische und serolo- gische Verlaufskontrollen	Seite 9
6. Vitalitätsproben	Seite 9
7. Versuchsgruppen	Seite 9
8. Operatives Vorgehen, Anästhesie	Seite 10
C) ERGEBNISSE	Seite 11
1. Frische Hauttransplantate	Seite 12
2. Konservierte Hauttrans- plantate	Seite 13
3. Überlebenszeiten der Trans- plantate in Relation zum Alter der Kalbsfeten	Seite 16
4. Makroskopische Verlaufs- kontrollen	Seite 17
5. Serologische Verlaufs- kontrollen	Seite 18
6. Vitalitätsproben	Seite 19
7. Nachweis der Aufnahme von Nukleinsäuren in die fetale Kalbshaut	Seite 19

D) DISKUSSION UND SCHLUSSBETRACHTUNG	Seite 20
E) ZUSAMMENFASSUNG	Seite 24
Literaturverzeichnis	Seite 26
Lebenslauf	Seite 30

A) EINLEITUNG

Eiweiss-, Flüssigkeits- und Elektrolytverlust, hinzukommend die Infektionsgefahr bei Patienten mit grossflächigen Verbrennungen, machen eine frühzeitige Abdeckung der Wunden mit einem geeigneten Interimsverband dringend notwendig. Je grossflächiger jedoch der Defekt, desto weniger steht autogene Spalthaut als Eigenhauttransplantat zur Verfügung. Man ist deshalb schon seit geraumer Zeit auf der Suche nach einem geeigneten biologischen Verband für grossflächige Verbrennungswunden.

Verwendet wurden dabei neben Autotransplantaten Allo-transplantate, Xenotransplantate und Kollagenfolien. Die Verwendung von Allo- und Xenotransplantaten führt zu einer heftigen Abstossungsreaktion des Organismus und es kommt zur Induration und Kontraktion des Wundbettes, so dass für die spätere Autotransplantation äusserst ungünstige Voraussetzungen entstehen.

Kollagenfolien haben den Nachteil, zu rasch unwirksam zu werden.

HISTORISCHER OBERBLICK

1. Allotransplantate:

Hautallotransplantate führen zu einer heftigen Abstossungsreaktion des Organismus mit Ödembildung, Zellinfiltration und Kapillarverschluss. Alles dieses sind ungünstige Voraussetzungen für eine spätere Autotransplantation. Moncrief schlug deshalb 1964 vor, die Transplantate zu entfernen, bevor es zu einer Abstossungsreaktion kommt.

Außerdem versucht man an einigen Zentren auch bei Hautallotransplantationen eine Typisierung im HL-ASystem und ABO-System, Systeme für Transplantationsantigene vorzunehmen, um die Abstossungsreaktion zeitlich hinauszuzögern.

Hacket, Batchelor und Mitarbeitern ist es in East-Grinstead gelungen, mit typisierter Haut signifikante Verlängerungen der Überlebenszeiten der Transplantate zu erzielen, nämlich auf drei bis vier Wochen, im Vergleich von 8 bis 11 Tagen bei nicht-typisierter Haut.

2. Verwendung von Antilymphozytenglobulin zur Immunsuppression bei Schwerstverbrannten:

Nachdem sich im Tierversuch zeigte, dass man bei Verwendung von Allotransplantaten die Abstossungsreaktion durch Gabe von Antilymphozytenserum zeitlich hinauszögern konnte (Koumans, Burke), wendete man dieses Verfahren auch beim Menschen an.

Diethelm und Mitarbeiter behandelten zwei Kinder, die jedes drittgradige Verbrennungen von 75 % der gesamten Körperoberfläche aufwies. Sie verwendeten dabei im ABO-System und HL-ASystem typisierte Haut von Verwandten der Kinder als Allotransplantate, da die unverbrannt gebliebenen Hautflächen zur Autotransplantation zu klein waren. Ausserdem kamen Schweinehauttransplantate zur Anwendung, die 6 bis 8 Tage nach der Transplantation abgestossen wurden. Beide Kinder erhielten vor der Transplantation der Allotransplantate intravenös Antilymphozytenglobulin in einer Konzentration von 70 mg/kg Körpergewicht am Tag. Ein Kind starb an einer Sepsis, wobei ein Teil der Allotransplantate noch nicht abgestossen war. Das zweite Kind erhielt ebenfalls Schweinehauttransplantate, und soweit die unverbrannt gebliebene Hautoberfläche es zulies, Autotransplantate und Allotransplantate. Am 10. Tag nach der Allotransplantation ging man dazu über, intramuskulär Antilymphozytenglobulin in einer Konzentration von 4 mg/kg Körpergewicht am Tag für die nächsten 15 Tage zu geben. Ob nun die verlängerte Überlebenszeit der Allotransplantate durch die Alteration des Immunsystems bei Verbrennungen (Alexander, Moncrief) oder durch die immunsuppressiven Eigenschaften des ALG erzielt wurde, kann zur Zeit noch nicht beantwortet werden. Simmons und Mitarbeiter konnten durch vergleichende Untersuchungen beim Menschen zeigen,

dass die Verlängerung der Überlebenszeit von typisierten Allotransplantaten in direkter Relation zur angewendeten Dosis des ALG steht. Diethelm beschränkt diese Art der Behandlung auf Fälle mit mehr als 60 % drittgradiger Verbrennung der Körperoberfläche, da hier die verbliebene gesunde Hautoberfläche für ausreichende Autotransplantation zu gering ist. Er führt diese Patienten einer Allotransplantation mit typisierter Haut zu und gibt prä- und postoperativ Antilymphozytenglobulin.

3. Schweinehaut:

Haut besitzt eine besonders starke Antigenität, weswegen nur sehr schwer eine Transplantation toleriert wird. Man benötigt daher, wenn man Allotransplantate verwendet, grosse Mengen von Leichenhaut, was einen enormen personellen und technischen Aufwand bedeutet. Deshalb ist man dazu übergegangen, anstatt Leichenhaut Schweinehaut als primäres Deckungsmaterial zu benutzen. Schweinehaut hat den Nachteil keine gute Haftfähigkeit zu haben. Law und Mitarbeiter konnten zudem nachweisen, dass Schweinehaut als Interimsdeckung zu einer starken Sensibilisierung des Organismus führt. Das macht sie zusätzlich für eine Transplantation ungeeignet.

4. Kollagenfolien:

Kollagenfolien zersetzen sich auf sezernierenden Wundflächen sehr schnell, ausserdem haften sie ebenfalls nicht gut an. Sie bewirken zudem eine heftige Entzündungsreaktion und Induration des Wundbettes, dies alles sind ungünstige Voraussetzungen für eine spätere Autotransplantation. Als alleiniges Deckungsmaterial sind sie somit ebenfalls ungeeignet.

5. Fetale Kalbshaut:

1951 schlug Silvetti vor, als Interimsmaterial zur Deckung grossflächiger drittgradiger Verbrennungen fetale Kalbshaut zu verwenden. Er fand Überlebenszeiten der Transplantate von 8 bis 11 Tagen. Nach der Abstossung der Transplantate fand er saubere, weiche granulierende Wunden. Rogers und Mitarbeiter benutzten fetale Kalbshaut bei Patienten und beobachteten eine überraschend geringe Abwehrreaktion.

Somit bietet fetale Kalbshaut gegenüber anderen Materialien zur Abdeckung grossflächiger Verbrennungswunden unschätzbare Vorteile: ein ausserordentlich gutes Haftvermögen - als einziges Material kann sie solange auf der Wunde belassen werden, bis sie abgestossen wird -; sie besitzt eine geringe Immunogenität; sie schafft für eine spätere Autotransplantation günstige Voraussetzungen, da keine Ödembildung und Wundschrumpfung eintritt, im Gegenteil sauber granulierende Wunden entstehen. Der einzige Nachteil besteht in der relativ kurzen Transplantatüberlebenszeit - bis zu 16 Tagen -. Da sich bei Patienten mit schweren drittgradigen Verbrennungen eine Immunsuppression wegen der geschwächten Abwehrlage und Neigung zu Infektion verbietet, bleibt als Ausweg eine "Transplantatkonditionierung", d.h. durch geeignete Verfahren die Antigenität eines Transplantates herabzusetzen. Dies wurde mit den verschiedensten Mitteln versucht: durch Röntgenstrahlung, Gefrieren, Enzyminhibitoren etc. Bis jetzt haben alle diese Versuche keine eindeutigen Erfolge zeitigen können in dem Bemühen, die Transplantatüberlebenszeit zu verlängern.

In den letzten Jahren hat die "Transplantatkonditionierung" mittels Nukleinsäuren zunehmend an Bedeutung gewonnen, und zwar bei Hauttransplantationen und Organtransplantationen.

Tabelle 1

Oberlebenszeiten von Haut- und Organtransplantaten
nach Vorbehandlung mit Nukleinsäuren.

Autor	RNA/DNA	Haut od. Organtra.	Tier	System	Oberleb. i. Tagen	Oberle Kontr.
Ashley 1961	allog. RNA	Haut	neugeb. Ratten	allog.	45-70	
Axelrod, Lowe 1961	allog. RNA	Haut	ältere Ratten	allog.	21-28	10
Largaader 1967	autog. RNA Hefe RNA	Niere Niere	Hund Hund	allog. allog.	14-48 15-20	
Lemperle 1968	autog. RNA autog. DNA	Haut Haut	Maus Maus	allog. allog.	19,3 $\pm$ 1,9 19,3 $\pm$ 1,9	
Seinfeld, Brendel 1969	xenog. RNA	Niere	Hund	xenog.	540'	10-15'
Seinfeld 1970	xenog. RNA	Niere	Hund	allog.	23,4 $\pm$ 2,8	
Jolley	xenog. RNA	Haut	Kaninch.	allog.	34 $\pm$ 18	7,6 $\pm$ 1,0

Diese ermutigenden Ergebnisse legten nahe, auch im xenogenen Hautsystem, d.h. bei der Transplantation fetaler Kalbshaut eine Transplantatkonditionierung mittels Inkubation dieser fetalen Kalbshaut in RNA zu versuchen und zu sehen, ob man eine signifikante Verlängerung der Oberlebenszeiten solcher Transplantate erreichen kann.

Bei den Vorteilen, die fetale Kalbshaut als Interimsdeckung bei Schwerstverbrannten bietet, erschien uns ein solcher Versuch auch aus klinischer Sicht gerechtfertigt.

Als Modell dieser Studie dienten ausgewachsene Kaninchen als Empfänger und fetale Kalbshaut als Transplantat.

An 100 Kaninchen sollten im einzelnen folgende Fragen geklärt werden:

- a) Lässt sich die Überlebenszeit von fetaler Kalbshaut im xenogenen Hautsystem durch Inkubation mit Nukleinsäuren signifikant verlängern?
- b) Ist fetale Kalbshaut konservierbar?
- c) Aus welcher Gestationszeit stammt das günstigste Transplantat hinsichtlich der Immunogenität, der Haftfähigkeit, der mechanischen Beanspruchbarkeit und Länge der Überlebenszeit?
- d) Erfolgt eine Immunreaktion gegen fetale Kalbshaut?

B) MATERIAL UND METHODIK

1. Versuchstiere:

Für die Transplantation xenogener Haut wurden als Empfänger 100 adulte 2,5-3kg schwere Kaninchen beiderlei Geschlechts verwendet. Für unsere Versuche bieten sie einige Vorteile: es lässt sich für die laufenden serologischen Untersuchungen leicht Blut aus der Ohrvene entnehmen und es lassen sich relativ grosse Transplantate übertragen, die dann makroskopisch gut beobachtet werden können.

2. Gewinnung der fetalen Kalbshaut:

Auf dem Schlachthof wurden die unversehrten Uteri frisch geschlachteter gravider Kühe entnommen. Innerhalb von 20 Minuten wurde unter sterilen Kautelen der Fetus entnommen, die fetale Haut in einem Stück abgelöst. Die Haut wurde in zwei gleich grosse Stücke geschnitten und bei 4 Grad Celsius in physiologische Kochsalzlösung gelegt.

Die eine Hälfte der Haut wurde ohne Vorbehandlung mit Nukleinsäuren transplantiert, die andere nachdem sie 3 Stunden in RNA inkubiert worden war. Wurde die Haut konserviert, wurde 3 Stunden vor Beginn der Transplantation die Inkubation in RNA begonnen.

3. Gewinnung der Nukleinsäuren (RNA):

Die Nukleinsäuren wurden nach der Methode von Zillig (1967) in der Modifikation von Seinfeld und Brendel aus dem Gewebe von Kalbsfeten gewonnen.

Das Gewebe wurde bei 3000 Upm in 0,25m Sucrose, 0,001m EDTA und 0,01m Tris-HCL-Puffer bei einem pH von 7,4 drei Minuten in einem Starmix homogenisiert. Das Homogenat erhielt einen Zusatz von 0,3% Natriumdeoxycholat. Die erste Extraktion erfolgte nach Zugabe des gleichen Volumens einer 80%igen Phenol-Puffer-Mischung unter konstantem Rühren bei 68 Grad für dreissig Minuten.

Um die Oxydation des Phenols zu vermeiden, wurde der Mischung 0,1%iges 8Hydroxycholelin zugesetzt. Nach der Extraktion wurde durch Zentrifugieren bei 10000Upm und 4 Grad für dreissig Minuten eine wässrige Phase gewonnen, welche in der vorstehend beschriebenen Weise nochmals extrahiert und zentrifugiert wurde.

Die erneut gewonnene wässrige Phase wurde mit einem halben Volumen Äther ausgeschüttet, um das restliche Phenol zu entfernen, und mit 2% Natriumacetat und 70%igem Alkohol versetzt. Bei zwölfstündigem Aufbewahren im Kühlschrank wurde die RNA ausgefällt und durch Zentrifugieren gewonnen. Anschliessend wurde sie in eiskaltem 0,01m Tris-HCL-Puffer bei einem ph von 7,5 unter Zusatz von 0,01m MgCL bei 4 Grad mit reiner Deoxyribonuklease aus Pankreas (4-5/y/ml Serva Heidelberg) fünfzehn Minuten lang inkubiert, um verbliebene DNA-Moleküle zu entfernen. Zur Inaktivierung der Ribonuklease folgt eine dreistündige Inkubation mit Pronase bei 37 Grad (Nomoto und Mitarbeiter 1960). Anschliessend wird Bentonite (1mg/ml) zugegeben (Littauer und Mitarbeiter 1962), um restliche Ribonuklease zu entfernen. Das Inkubat wird anschliessend erneut mit einem gleichen Volumen Phenol einer Extraktion unterzogen und wie oben beschrieben ausgefällt. Eine wiederholte Fällung erfolgt in 2m Natriumacetat und 2,5 Teilen absolutem Alkohol für einige Stunden bei minus 20 Grad. Dieser Vorgang wird dreimal wiederholt, um alle Oligodeoxyribonukleotide zu entfernen. Schliesslich wird die RNA in 2% Natriumacetat aufgenommen und mit 2,5 Teilen Alkohol wiederum ausgefällt. Das Präzipitat wird zweimal in 75%igem Alkohol und absolutem Alkohol und Äther gewaschen und bei 60 Grad C im Heissluftofen getrocknet. Die lockere weisse Substanz wird in Portionen von 100mg abgefüllt und verschlossen bei 60 Grad an drei aufeinanderfolgenden Tagen tyndallisiert.

4. Testung der Aufnahme von Nukleinsäuren in die Haut:

Gewinnung von H³ markierter RNA aus *Escherichia coli* durch Zugabe von H³-Uracil zum Nährmedium. Extraktion der RNA nach der Methode von Bolle. Pro γ RNA wurde im Scintillationszähler 20000 i.p.m. gemessen.

5. Makroskopische und serologische Verlaufskontrollen:

In Abständen von 5 Tagen erfolgten Blutentnahmen für die serologischen Verlaufskontrollen.

Es kamen folgende Methoden zur Anwendung:

- a) Gel-Doppeldiffusionstest nach Ouchterlony
- b) Komplementbindungsreaktion
- c) Lymphocytotoxischer Test

6. Vitalitätsproben:

Intravenöse Injektion von Disulphinblau in die Ohrvene der Kaninchen sollte die Ernährung der Transplantate prüfen. Zu verschiedenen Zeitpunkten wurde den Transplantaten Proben entnommen und der Sauerstoffverbrauch der Haut nach der Methode von Warburg gemessen.

7. Versuchsgruppen:

- a) 40 Kaninchen erhielten in einer parallel laufenden Serie frische Kalbshaut transplantiert, und zwar erhielten 20 Tiere in physiologischer Kochsalzlösung aufgehobene Haut und 20 erhielten fetale Kalbshaut desselben Feten, die 3 Stunden in Nukleinsäuren inkubiert wurde.
- b) 20 Tiere erhielten fetale Kalbshaut transplantiert, die 24 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung bei 4 Grad aufgehoben worden war, davon 10 Tiere native Kalbshaut und 10 Tiere erhielten über drei Stunden in RNA inkubierte fetale Kalbshaut.
- c) 20 Tiere erhielten fetale Kalbshaut, die über 48 Stunden aufgehoben worden war, wiederum erhielten je 10 Tiere native Kalbshaut und je 10 Tiere in Nukleinsäuren inkubierte Kalbshaut.

- d) 20 Tiere bekamen fetale Kalbshaut transplantiert, die eine Woche bei 4 Grad Celsius in physiologischer Kochsalzlösung aufgehoben worden war. Davon bekamen je 10 Tiere native Kalbshaut und je 10 Tiere inkubierte Kalbshaut.
- e) 30 Kalbsfeten vom 3. bis 6. Gestationsmonat wurden enthäutet und die Kalbshaut auf 80 Kaninchen transplantiert. Die Überlebenszeit der Transplantate wurde in Relation zur Scheitel-Steisslänge der Feten gemessen, auch hier eine Gruppe ohne und eine Gruppe mit Nukleinsäureinkubation. Es wurde auch das Haftvermögen und die mechanische Widerstandskraft geprüft. Es ergaben sich drei Gruppen: Feten mit einer Scheitel-Steisslänge unter 35 cm, Feten mit einer Länge von 35-45 cm und solche mit über 45 cm Länge.

8. Operatives Vorgehen, Anästhesie:

Zur Anästhesie der Kaninchen wurde Nembutal in einer Dosierung von 30mg/kg Körpergewicht angewendet. Jede Operation wurde unter strengen aseptischen Bedingungen durchgeführt. Das Rückgrat der Kaninchen wurde rasiert und das entstehende Areal mit Alkohol und Jodtinktur abgewischt. Bei jedem Kaninchen wurde an der seitlichen Rückenpartie ein Hautdefekt bis auf die Fascie von 7x10 cm gesetzt. Unmittelbar darauf wurde dieser Defekt mit einem gleich grossen Stück fetaler Kalbshaut gedeckt, und zwar jeweils eine Serie mit nativer Kalbshaut und eine Serie mit in RNA inkubierter Kalbshaut.

Das Transplantat wurde mit Einzelknopfnähten an Wundrändern und Muskelfascie befestigt, ausserdem noch mit dem Gewebekleber Histoacryl-N an die Wundränder adaptiert. Auf die Transplantate wurde Solvaline getan und darüber ein gefensterter Elastoplastverband angelegt. So war es möglich die Transplantate täglich makroskopisch zu inspizieren.

C) ERGEBNISSE

Oberlebenszeiten von Transplantaten fetaler Kalbshaut, die in einer Serie nativ und in einer Serie nach Inkubation in Nukleinsäuren transplantiert worden waren.

Tabelle 2

Zeit nach Entnahme in Stunden	mittlere Überlebenszeit in Tagen	
	ohne RNA	mit RNA
3 Std.	12,7 $\pm$ 1,0	23,5 $\pm$ 1,8
24 Std.	10,2 $\pm$ 0,9	17,6 $\pm$ 1,4
48 Std.	14,3 $\pm$ 1,4	23,5 $\pm$ 1,1
1 Woche	10,1 $\pm$ 0,6	14,0 $\pm$ 0,8

1. Frische Hauttransplantate:

Die mittlere Überlebenszeit frischer Hauttransplantate, die nicht vorbehandelt waren, lag bei $12,7 \pm 1,0$ Tagen, die mit Nukleinsäuren vorbehandelter Transplantate bei $23,5 \pm 1,8$ Tagen. Es zeigt sich, dass die Überlebensdauer durch Inkubation in Nukleinsäuren fast um das Doppelte verlängert wurde.

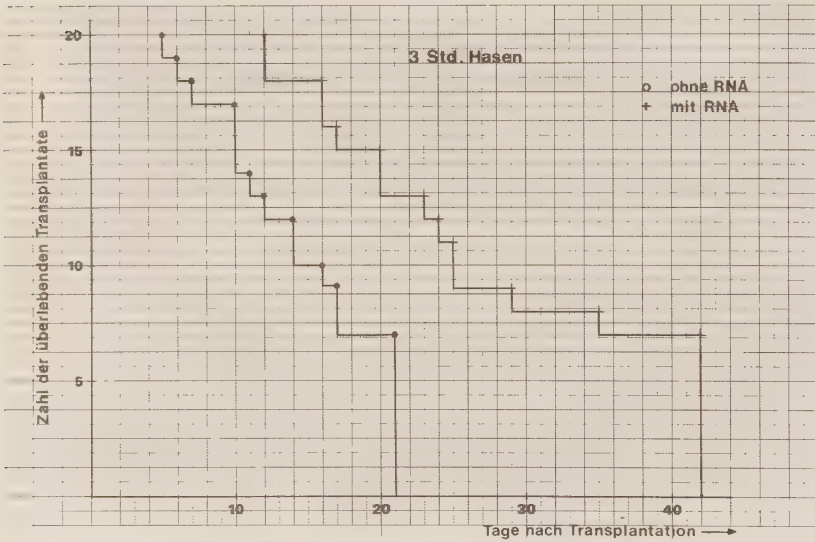


Abbildung 1:

Überlebenszeiten von frischen auf Hasen verpflanzten fetalen Kalbshauttransplantaten; eine Gruppe der Transplantate ohne und eine Gruppe mit Inkubation in RNA.

2. Konservierte Hauttransplantate:

a) 24 Stunden aufgehobene Haut:

Xenotransplantate, die 24 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung bei 4 Grad aufgehoben worden waren und ohne Vorbehandlung transplantiert wurden, hatten eine mittlere Überlebenszeit von $10,2 \pm 0,9$ Tagen. Die Gruppe der vorbehandelten Transplantate hatte eine mittlere Überlebenszeit von $17,6 \pm 1,4$ Tagen. Dies entspricht einer Verlängerung von 7,4 Tagen.

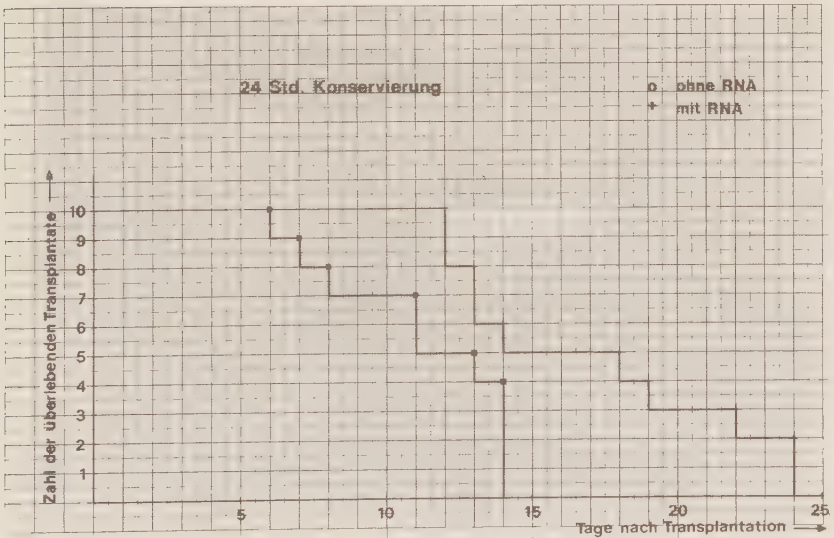


Abbildung 2:

Überlebenszeiten von 24 Stunden konservierten auf Hasen transplantierten fetalen Kalbshauttransplantaten. Auch hier eine Gruppe der Transplantate ohne und eine Gruppe mit Inkubation in RNA.

b) 48 Stunden aufgehobene fetale Kalbshaut:

Bei 48 Stunden aufgehobener fetaler Kalbshaut ergab sich bei der Gruppe der nicht vorbehandelten Transplantate eine mittlere Überlebenszeit von $14,3 \pm 1,4$ Tagen. Die Gruppe der mit Nukleinsäuren vorbehandelten Transplantate zeigte eine mittlere Überlebenszeit von $23,5 \pm 1,1$ Tagen.

Vergleicht man diesen Wert mit der Verlängerung der mittleren Überlebenszeit bei der 24 Stunden aufgehobenen Haut, so fällt auf, dass mit längerer Konservierungszeit die Überlebenszeit der Transplantate nicht wesentlich gegenüber Frischtransplantaten zurückbleibt. Fetale Kalbshaut lässt sich also konservieren, was für ihre klinische Verfügbarkeit sehr von Bedeutung ist.

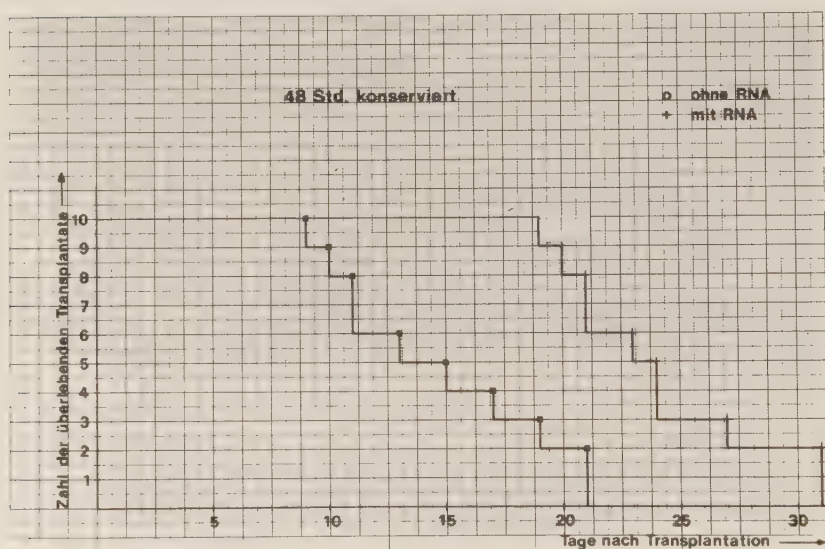


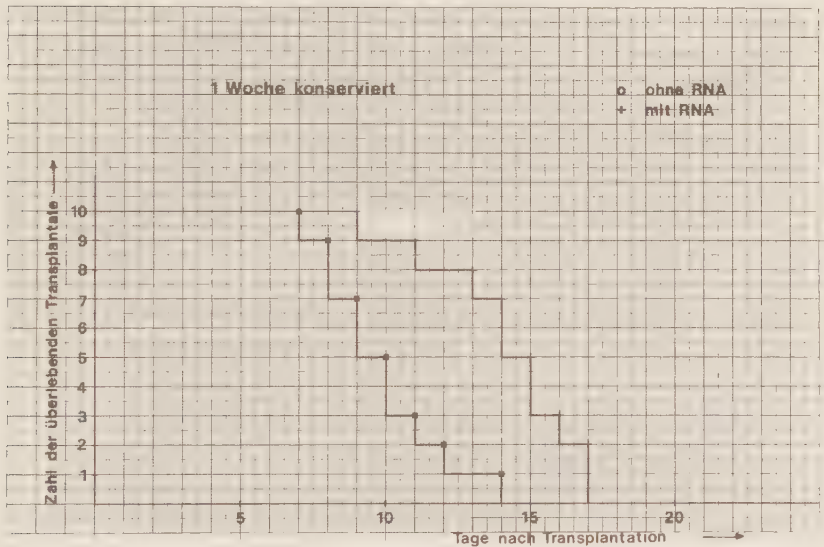
Abbildung 3:

Überlebenszeiten von auf Hasen verpflanzten fetalen Kalbshauttransplantaten, die 48 Stunden konserviert worden waren. Wiederum eine Gruppe der Transplantate nach Inkubation in RNA, die andere Gruppe ohne Inkubation in RNA.

c) 1 Woche aufgehobene Haut:

Nach 1 Woche Konservierung zeigten die nicht vorbehandelten Transplantate eine mittlere Überlebenszeit von $10,1 \pm 0,6$ Tagen, die mit RNA vorbehandelten eine solche von $14,0 \pm 0,8$ Tagen.

Dies sind gegenüber Frischhauttransplantaten deutlich verkürzte Überlebenszeiten.



Überlebenszeiten von auf Hasen verpflanzten fetalen Kalbshauttransplantaten, die eine Woche konserviert worden waren. Eine Gruppe der Transplantate wurde nach dreistündiger Inkubation in RNA transplantiert, eine Gruppe wurde ohne Inkubation in RNA transplantiert:

3. Überlebenszeiten der Transplantate in Relation zum Alter der Kalbsfeteten:

Scheitel-Steisslänge kleiner 35 cm:

Die mittleren Überlebenszeiten der Transplantate dieser Gruppe betrugen bei nicht vorbehandelten Transplantaten $13,0 \pm 1,2$ Tage, bei vorbehandelten $23,2 \pm 1,5$ Tage.

Scheitel-Steisslänge zwischen 35 und 45 cm:

Hier betrug die mittlere Überlebenszeit bei nicht vorbehandelten Transplantaten $14,9 \pm 1,3$ Tage, bei mit Nukleinsäuren behandelten Transplantaten $14,9 \pm 1,3$ Tage, bei vorbehandelten $20,9 \pm 1,5$ Tage.

Ober 45 cm Scheitel-Steisslänge:

Nicht vorbehandelte Transplantate zeigten hier eine mittlere Überlebenszeit von $10,5 \pm 1,5$ Tagen, mit Nukleinsäuren vorbehandelte eine solche von $15,6 \pm 2,2$ Tagen.

Wieder zeigt sich, dass in allen Gruppen die mit Nukleinsäuren vorbehandelten Transplantate eine deutlich längere Überlebenszeit gegenüber den nicht vorbehandelten haben. Die günstigsten Überlebenszeiten zeigt die Gruppe unter 35 cm Scheitel-Steisslänge. Doch ist für klinische Zwecke die Gruppe von 35 bis 45 cm vorzuziehen, da die fetale Kalbshaut aus dieser Gestationsperiode eine kräftigere Struktur hat und gegenüber mechanischen Einflüssen widerstandsfähiger ist.

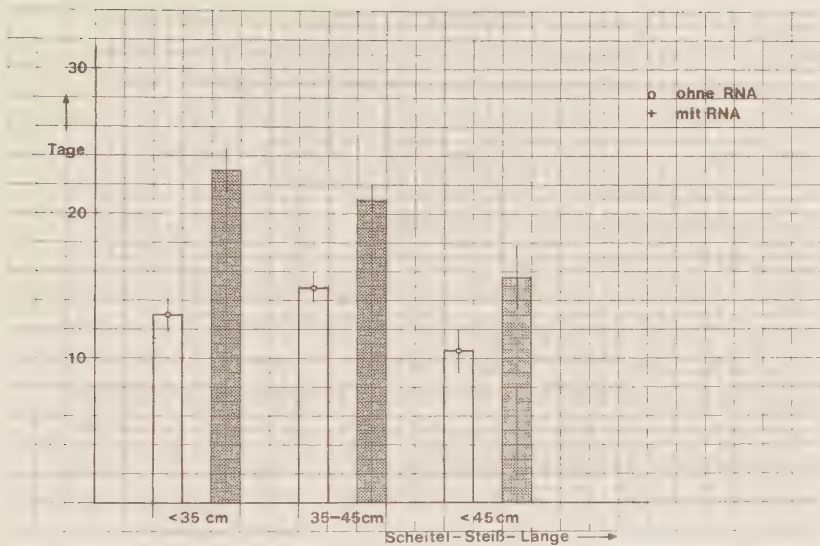


Abbildung 5:

Oberlebenszeiten fetaler auf Hasen verpflanzter Kalbshauttransplantate in Relation zum Alter der Kalbsfeten. Auch hier wird zwischen in RNA inkubierten Transplantaten und solchen ohne Inkubation unterschieden.

4. Makroskopische Verlaufskontrollen:

Nach der Transplantation verklebten die Transplantate rasch mit dem Empfängerbett. Bereits wenige Stunden nach der Transplantation liessen sich die Transplantate nicht mehr auf dem Wundbett verschieben. Dies spricht für die hervorragend gute Haftfähigkeit der fetalen Kalbshaut und lässt sie gegenüber jedem anderen Deckungsmaterial geeigneter erscheinen.

Nach der Transplantation kam es am Rande der Transplantate im Bereich des Gewebeklebers zur Eintrocknung der oberflächlichen Hautschicht. Der übrige Teil des Transplantats blieb weich, transparent und veränderte sein Aussehen nicht.

Fetale Haut hat eine besonders hohe Wasseraufnahmefähigkeit, das erklärt, warum es in keinem Fall zu einem Exsudat oder Ödem unter dem Transplantat kam. Ein bis zwei Tage nach der Transplantation war es nicht mehr möglich die Transplantate vom Empfängerbett abzulösen. Bis zum achten Tag nach der Transplantation sahen alle Transplantate weich, unverändert und lebensfähig aus. Bei den unbehandelten Transplantaten zeigten sich durchschnittlich ab achten Tag die ersten trockenen Stellen an den oberen Hautschichten. Die mit Nukleinsäuren vorbehandelten Transplantate zeigten erst ab zwölften Tag erste trockene Stellen. Dabei wurde die anfangs gelbliche Farbe der Transplantate allmählich dunkler. Der Dehydrierungsvorgang ging bei unbehandelten Transplantaten deutlich schneller vor sich, waren sie doch bereits am zwölften bis vierzehnten Tag völlig trocken, während die behandelten Transplantate erst nach 22 bis 30 Tagen völlig trocken waren. Trotzdem hafteten die Transplantate dem Wundbett noch gut an, bis sie vollständig von Epithel unterwandert waren und als bräunlicher Wundschorf abfielen. Bei absichtlicher Ablösung der Transplantate vom Wundbett zeigte sich immer eine gut granulierende Wunde, in keinem Fall konnte man eine Entzündung oder ein Ödem entdecken.

5. Serologische Verlaufskontrollen:

An zwanzig Versuchstieren wurden laufende serologische Verlaufskontrollen durchgeführt. Dabei liessen sich keine nennenswerten Antikörpertiter feststellen. Bei der Komplementbindungsreaktion lagen die Titer bei 1:4 bis 1:16. Der Gel-Doppeldiffusionstest nach Ouchterlony und der lymphozytotoxische Test fielen negativ aus.

6. Vitalitätsproben:

Disulphinblau wurde an verschiedenen Tagen nach Transplantation einigen Tieren in die Ohrvene gespritzt. Es gelangte zu keinem Zeitpunkt Farbstoff in die Transplantate. Nach Probeexcision der Transplantate zeigte sich, dass keine Farbstoffanreicherung in den Transplantaten erfolgt war. Die Ernährung der Transplantate scheint somit durch Diffusion zu erfolgen, da sich auch mikroskopisch keine Farbpartikel nachweisen liessen.

Weiterhin haben wir an verschiedenen Tagen nach Transplantation den Transplantaten Proben entnommen und ihre Stoffwechselaktivität am Sauerstoffverbrauch nach der Methode von Warburg bestimmt. Es zeigte sich, dass makroskopisch vital erscheinende Transplantate auch tatsächlich stoffwechselaktiv waren. Die mit Nukleinsäuren vorbehandelten Transplantate wiesen dabei eine wesentlich längere Stoffwechselaktivität auf als die unbehandelten.

7. Nachweis der Aufnahme von Nukleinsäuren in die fetale Kalbshaut:

Über verschiedene Zeiträume hinweg - 1, 2, 4, 8, 16 Stunden lang - wurde fetale Kalbshaut in mit Uracil markierter RNA bei Temperaturen von 4, 22 und 37 Grad inkubiert. Danach wurden die Hautstücke mit physiologischer Kochsalzlösung mehrmals gespült und im Packard-Tricarb 3003 durch Scintillationszählung der Nachweis erbracht, dass die Nukleinsäuren mit der fetalen Kalbshaut eine feste Verbindung eingehen. Nach 4 Stunden Inkubationszeit wurde der stärkste Impulsratenanstieg verzeichnet.

D) DISKUSSION UND SCHLUSSBETRACHTUNG

Im Zeitalter zunehmender Technisierung unserer Umwelt nehmen schwere grossflächige Verbrennungen dritten Grades, sei es durch Betriebsunfälle, sei es im Strassenverkehr, immer mehr zu. Es gelingt heute dem Kliniker im allgemeinen gut, die erste Schockphase zu überwinden und den Patienten einer weiteren Therapie zuzuführen. Dann aber drohen durch die grossflächigen Wunden Eiweiss- und Elektrolytverlust sowie Flüssigkeitsverlust und die starke Infektionsgefahr. Es ist deshalb von entscheidender Bedeutung geworden, die Wundflächen so früh wie möglich mit einem geeigneten Deckungsmaterial abzudecken. Geeignet bedeutet hier im einzelnen:

1. Das Material muss sterilisierbar oder von Natur aus steril sein.
2. Es darf nicht zu einer zu starken Abstossungsreaktion führen, die das Anheilen von später erfolgenden Autotransplantaten erschwert und zu Wund- und Narbenkontrakturen führt.
3. Es soll im Wundgebiet eine glatte, saubere Granulation ermöglichen, ebenfalls um gute Voraussetzungen für die nachfolgende Autotransplantation zu schaffen.
4. Es muss schnell und fest im Wundbett haften, um Serombildung und Infektion sicher zu vermeiden.

Verwendung finden heute vor allem Allotransplantate, d.h. Leichenhaut. Wegen der äusserst ungünstigen Folgen einer zu starken und heftigen Abstossungsreaktion hat Moncrief die Forderung erhoben, die Transplantate bereits vor Beginn der Abstossung wieder vom Wundbett zu entfernen, d.h. nach 3 bis 4 Tagen. Dies bedeutet aber, dass man dem Patienten häufige und belastende Transplantatwechsel zumuten muss, womit der Wert der Allotransplantate als Schutz und Deckungsmaterial sehr eingeschränkt wird.

Um die genetische Diskrepanz zwischen Empfänger und Spender möglichst gering zu halten, ist man dazu übergegangen, beim Menschen im HL-A-System und ABO-System typisierte Transplantate zu verwenden. Hacket und Batchelor hatten damit gute Erfolge und konnten die Transplantatüberlebenszeit auf einen Zeitraum von drei bis vier Wochen ausdehnen und auch die nachteiligen Wirkungen einer starken Abstossungsreaktion wie Gefäßstombosen, Ödembildung und Zellinfiltration im Wundbett hintanhaltan. Ein solches Verfahren erfordert jedoch die Einrichtung sogenannter Hautbanken, was mit einem enormen finanziellen und personellen Aufwand verbunden ist und derzeit routinemässig nicht durchführbar ist.

Schwere Verbrennungen dritten Grades ziehen eine Alteration des Immunsystems nach sich, im Sinne einer erschwerten Reagibilität gegenüber infektiösen Noxen (Alexander et Moncrief, Rapaport et al.). Ein Patient mit solchen Verletzungen ist also nicht nur durch die grossflächigen Verbrennungswunden vermehrter Infektionsgefahr ausgesetzt, sondern zusätzlich durch seine Immunschwäche gefährdet. Eine Anwendung von Antilymphozytenserum sollte deshalb Fällen vorbehalten bleiben, bei denen 75 % der Körperoberfläche und mehr Verbrennungen dritten Grades aufweisen und nicht genügend Spalthaut zur Autotransplantation zur Verfügung steht.

Einen Ausweg bietet hier die Möglichkeit, nicht die Immunantwort des Empfängers, sondern die Antigenität des Transplantats zu beeinflussen. Dies geschieht durch die sogenannte "Transplantatkonditionierung" durch Inkubation des Transplantats in Nukleinsäuren. Sie wurde allenthalben ausser im Hautsystem auch bei Organsystemen mit gutem Erfolg durchgeführt. Bei Hautallotransplantaten (Jolley und Mitarbeiter) konnte dadurch die Transplantatüberlebenszeit verlängert werden, jedoch setzte die Abstossungsreaktion unvermindert heftig ein. Somit lässt sich dieser Weg bei Hautallotransplantaten nicht gehen. Die immunologische Reife eines Gewebes tritt erst im Laufe der Gestation ein, und zwar bei den einzelnen Spezies zu verschiedenen Zeitpunkten, so zum Beispiel bei Kalbsfeten in der ersten Hälfte der Gestation.

Rogers und Converse, Sokolic und Mitarbeiter fanden, dass wegen der schwach ausgeprägten immunologischen Kompetenz fetale Kalbshaut ein gut geeigneter Hautersatz für Verbrennungspatienten ist.

Silvetti und Mitarbeiter fanden durch vergleichende Untersuchungen heraus, dass fetale Kalbshaut durch ihre geringe Immunogenität und gute mechanische Beanspruchbarkeit sowie ausgezeichnetes Haftungsvermögen sich für eine Interimsdeckung gut eignet. Timpel und Mitarbeiter haben durch Untersuchungen Hinweise dafür erarbeitet, dass menschliches und bovines Kollagen näher verwandt sind als das Kollagen anderer Spezies. Bei Hautersatzmaterial ist also fetale Kalbshaut Materialien anderer Spezies vorzuziehen.

Der einzige Nachteil fetaler Kalbshaut bestand in ihrer relativ kurzen Transplantatüberlebenszeit.

Es musste also die Frage geklärt werden, ob sich durch Transplantatkonditionierung mit Nukleinsäuren die Überlebenszeit fetaler Kalbshaut signifikant verlängern lässt. Dann musste gefunden werden, aus welcher Gestationszeit das geeignetste Transplantat kommt. Geeignet bezieht sich dabei nicht nur auf die Dauer der Überlebenszeit der Transplantate, sondern auch auf die Haftfähigkeit und mechanische Beanspruchbarkeit der Transplantate.

Das Alter der Kalbsfeten wurde nach der Scheitel-Steisslänge bestimmt. Erwartungsgemäss fanden wir die längsten Überlebenszeiten und den günstigsten Effekt der Nukleinsäurebehandlung bei der Gruppe unter 35 cm Scheitel-Steisslänge, d.h. bei Transplantaten aus der ersten Gestationszeit. Signifikante Verlängerung der Überlebenszeit bei vorbehandelten Transplantaten fanden wir in allen Gruppen. Berücksichtigt man jedoch die Forderung nach gutem Haftvermögen und mechanischer Beanspruchbarkeit, so erweist sich die Gruppe der 35 - 45 cm langen Feten für die Transplantation als am geeignetsten.

Für den Kliniker gleich wichtig ist die Frage, ob sich fetale Kalbshaut konservieren lässt. Bei unseren Versuchen fanden wir bei Frischhauttransplantaten, die mit Nukleinsäuren vorbehandelt worden waren, eine doppelt so lange

Transplantatüberlebenszeit wie bei den unbehandelten Kontrollgruppen. Bei einer Konservierung in physiologischer Kochsalzlösung bei 4 Grad über einen oder zwei Tage fanden wir ebenfalls eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit. Erst wenn die Haut nach einer Woche transplantiert wurde, konnte nach Vorbehandlung nur ein Zuwachs der Überlebenszeit von 4 Tagen im Vergleich zur Kontrollgruppe erreicht werden. Dies erscheint für eine klinische Verwendung als zu wenig.

Nach der Methode von Warburg wurde sowohl bei Frischhaut als auch bei konservierter Haut und bei Transplantaten zu verschiedenen Zeiten der Sauerstoffverbrauch gemessen. Dabei konnte eindeutig gezeigt werden, dass makroskopisch vital erscheinende Transplantate auch tatsächlich lebensfähig waren und signifikante Sauerstoffumsätze hatten. Ausserdem konnte bei mit Nukleinsäuren vorbehandelter Haut gezeigt werden, dass sie tatsächlich länger lebensfähig ist als Nativhaut.

Nach Largadiër ist für eine Transplantatkonditionierung mit Nukleinsäuren die Herkunft der RNA nicht von Bedeutung. Ihr Wirkungsmechanismus ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Largadiër meint, dass durch die Nukleinsäuren die Antigene abgedeckt werden und eine Verminderung der Antigenfreisetzung erreicht wird; bewiesen ist dies aber nicht.

In unseren Versuchen konnte gezeigt werden, dass fetale Kalbshaut auf Grund ihrer guten Haftfähigkeit, ihrer schwachen Immunogenität, ihrer mechanischen Widerstandskraft als primäres Deckungsmaterial bei drittgradigen Verbrennungen gut geeignet ist. Durch die Transplantatkonditionierung mit Nukleinsäuren konnte eine Verdoppelung der Überlebenszeiten der Transplantate erzielt werden, was eine klinische Anwendung bei Verbrennungspatienten ermöglicht.

E) ZUSAMMENFASSUNG

Der klinische Erfolg bei Patienten mit schweren drittgradigen Verbrennungen hängt weitgehend davon ab, ob es gelingt, die meist grossflächigen Wunden mit einem geeigneten Material abzudecken. Abstossungskrisen, die nachfolgend Narbenkontrakturen und schlechte kosmetische und funktionelle Ergebnisse bewirken, sind bei Allo- und Xenotransplantaten nicht zu vermeiden. Auf der Suche nach einem möglichst wenig immunogenen Deckungsmaterial stiess man auf fetale Kalbshaut. Leider waren die Transplantatüberlebenszeiten auch hier für eine befriedigend lange Abdeckung zu kurz. Auf Grund der Untersuchungen stellte sich deshalb die Aufgabe, durch „Transplantatkonditionierung“ mit RNA die Antigenität der fetalen Kalbshaut herabzusetzen. Ausserdem sollte festgestellt werden, aus welcher Gestationszeit das am besten geeignete Material kommt.

1. Bei Kalbshauttransplantaten von Feten über 45 cm Scheitel-Steisslänge lagen die Transplantatüberlebenszeiten am ungünstigsten, nämlich mit $10,5 \pm 1,5$ Tagen bei den unbehandelten und mit $15,6 \pm 2,2$ Tagen bei den behandelten Transplantaten.
2. Die Gruppe der Feten von 35 - 45 cm Länge zeigte bei den behandelten Transplantaten eine mittlere Überlebenszeit von $20,9 \pm 1,5$ Tagen, die unbehandelten $14,9 \pm 1,3$ Tage. Die Erfahrung dieser Versuche zeigte, dass den Feten mit der Scheitel-Steisslänge von 35 - 45 cm in der Anwendung der Vorzug zu geben ist, da die Haut eine bessere mechanische Beanspruchbarkeit aufweist.
3. Transplantate von Feten kleiner als 35 cm Scheitel-Steisslänge erreichten nach Vorbehandlung mit Nukleinsäuren eine mittlere Überlebenszeit von $23,2 \pm 1,5$ Tagen. In dieser Gruppe finden sich also die längsten Transplantatüberlebenszeiten. Die Verlängerung der Überlebenszeit gegenüber den Kontrolltieren betrug 10,2 Tage.

4. Bei Frischhaut wurde bei behandelten Transplantaten eine mittlere Überlebenszeit von $23,5 \pm 1,8$ Tagen erzielt. Das ist fast die doppelte Transplantatüberlebenszeit der unbehandelten Transplantate.
5. Wenn die fetale Kalbshaut 24 bzw. 48 Stunden konserviert worden war, erreichten die behandelten Transplantate eine Überlebenszeit von $17,6 \pm 1,4$ bzw. $23,5 \pm 1,1$ Tagen. Auch dies ist eine deutliche Verlängerung, wiederum nahezu das Doppelte der unbehandelten Transplantate.
6. Nach einer Woche Konservierung zeigten die behandelten Transplantate eine mittlere Überlebenszeit von $14,0 \pm 0,8$ Tagen. Dies sind nur vier Tage mehr als die Kontrolltransplantate.
7. Für die klinische Verwendung erscheint somit nur eine Konservierungszeit von maximal 48 Std. empfohlen werden zu können.
Diese Ergebnisse zeigen deutlich die signifikant längeren Überlebenszeiten der mit Nukleinsäuren vorbehandelten Transplantate.
8. Bei den serologischen Verlaufskontrollen konnten keine nennenswerten Anstiege der Antikörpertiter festgestellt werden. Ein weiterer Beweis für die geringe Immunogenität der fetalen Kalbshaut.
Diese Versuche zeigen, dass eine "Transplantatkonditionierung" der fetalen Kalbshaut mit Nukleinsäuren zu signifikanten Verlängerungen der Überlebenszeiten gegenüber den Kontrolltransplantaten führt. Ausserdem konnte gezeigt werden, dass sich fetale Kalbshaut gut als Deckungsmaterial bei schweren Hautverletzungen eignet und allen daran zu stellenden Forderungen genügt.

Literaturverzeichnis

- 1 Alexander J. W., Moncrief J. A.: Alterations of the immune response following severe thermal injury. Arch. Surg. 93,75 (1966)
- 2 Allgöwer M., Blocker G.: Viability of skin in relation to various methods of storage. Tex. Rep. Biol. Med. 10,1 (1952)
- 3 Artz C. P., Becker J. M., Lako V., Bromwell A. W.: Post-mortem skin homografts in the treatment of extensive burns. Plast. reconstr. Surg. 17,492 (1956), Arch. Surg. 71,682 (1955)
- 4 Ashley F. L., McNall E. G., Garcia E. N., Sloan R. F., Edwards J. W.: Studies on mammalian homotransplants of skin. An attempt to induce tolerance across the placenta in rats with RNA and DNA. Amer J. Surg. 98,217 (1959)
- 5 Ashley F. L., McNall E. G., Dutt N. R., Garcia E. N., Sloan R. F.: The effects of nucleic acids on homograft tolerance. Ann. N. Y. Acad. Sci. 87,429 (1960)
- 6 Ashley F. L., McNall E. G., Sloan R. F., Dutt N. R.: Further studies on the effect of ribonucleic acid on homotransplantation tolerance. Plast. reconstr. Surg. 26,530 (1960)
- 7 Ashley F. L., McNall E. G., Sloan R. F., Taylor J., Garcia E. N.: Studies on mammalian homotransplants of skin following thermal burns. Proceedings of the First Internat. Congr. on Research in Burns. Philadelphia: F. A. Davis 1962
- 8 Axelrod A. E., Lowe M.: Effect of ribonucleic acid extracts upon viability of skin homografts in the rat. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 108,549 (1961)
- 9 Bell C. C., Haynes B. W. Jr., Hume D. M., Egdahl R. H.: Clinical and experimental studies in fetal skin homografting. Surg. Forum 10,857 (1959)
- 10 Ben-Hur N., Solowey A. C., Rapaport F. T.: The xenograft rejection Phenomenon. 1. Response of the mouse to rabbit, guinea pig and rat skin xenografts. Israel J. med. Sci. 5,1 (1969)

- 11 Ben-Hur N., Solowey A. C., Rapaport F. T.: The xenograft rejection phenomenon. 2. Response of the guinea pig to mouse, rat and rabbit skin xenografts. *Israel J. med. Sci.* 3,322 (1969)
- 12 Billingham R. E., Krohn P. L., Medawar P. B.: Effect of cortisone on survival of skin homografts in rabbits. *Brit. J.* 1,1157 (1951)
- 13 Bohmert H., Sollinger H. W., Brendel W.: Möglichkeiten der Immunsuppression bei Bewebetransplantationen: Symposium über Haut und Gewebetransplantationen Innsbruck. *Melsunger med. Mitt.* 45,149 (1971)
- 14 Bohmert H., Seinfeld H., Brendel W., Sollinger H. W., Chaussy C.: Fetale Kalbshaut mit Nukleinsäuren zur temporären Deckung grossflächiger Verbrennungen dritten Grades. 1. Tagung der Vereinigung der Dtsch. Plast. Chirurgen, München, Kongressbericht 1970. Stuttgart: G. Thieme.
- 15 Bromberg B., Chul Song I., Mohn M. P.: The use of pig skin as a temporary biologic dressing. *Plast. reconstr. Surg.* 36,80 (1965)
- 16 Burrows L., Muir H., Mowbray J. F.: Rejection of mouse autografts with a purified allogeneic RNA. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 129,250 (1966)
- 17 Chardak W. M., Martin M. M., Jewett T. C., Boyer B. E.: Synthetic substitutes for skin. *Plast. reconstr. Surg.* 30,559 (1962)
- 18 Chul Song I., Bromberg B. E., Mohn M. P., Köhnlein E.: Heterografts as biological dressings for large skin wounds. *Surg.* 59,576 (1966)
- 19 A. G. Diethelm M. D., A. Dimick M. D., J. F. Shaw M. D., H. Baker D. V. M., S. P. Wilson B. S.: Management of the Severely Burned Child Utilizing Skin Allografts Modified by Equine Antithymocyte Globulin. ALG-Therapy and Standardization Workshop Bad Soden, p. 144, Behring Institute Mitteilungen 51 (1972)
- 20 Douglas B.: Homografts of fetal membranes as a covering for large wounds: especially those from burns. *J. Tenn. med. Ass.* 45,230 (1952)
- 21 Douglas L. G., Jonsson C. E.: Oxygen consumption in skin of experimentally burned rats. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 3,23 (1969)

- 22 Hacket M. E., Batchelor J. R.: The HL-Asystem and its importance for skin grafting in burned patients. Transact. of the Third Internat. Congr. on Research in Burns, p. 337. Bern: H. Huber 1971
- 23 Jolley W. R., Hinshaw D. B., Peterson M.: Basic studies on homograft acceptance including early clinical results. Amer. J. Surg. 112,308 (1966)
- 24 Köhnlein H. E.: Die Möglichkeiten der Momoio-, Hetero- und Allotransplantation bei der Behandlung von Schwerstverbrannten. H. Unfallheilk. 80,134 (1965)
- 25 Koumans R. K. J., Burke J. F.: Skin allografts and immunosuppression in the treatment of massive thermal injury. Surgery 66,89 (1969)
- 26 Largiader F., Treabert E., Senning A., Humbel R., Wegmann W.: Retarded rejection of renal transplants pretreated with nuclei acids. Germ. med. Mth. 13,607 (1968)
- 27 Law E. J., Nathan P., MacMillan B. G.: Clinical experience with porcine xenografts. Transact. of the Third Internat. Congr. on Research in Burns, p. 1970. Bern: H. Huber 1971
- 28 Lemperle G.: Prolonged survival of skin allografts after incubation with recipient DNA or RNA. J. Surg. Res. 8,511 (1968)
- 29 Lowe M. L., Axelrod A. E.: Studies on specificity of action of ribonucleic acid extracts upon viability of skin homografts in the rat. Transplantation 2,82 (1964)
- 30 Rapaport F. T., Converse J. M., Horn L., Ballantyne Jr. D. L., Mulholland J. H.: Altered reactivity to skin homografts in severe thermal injury. Ann. Surg. 159,390 (1964)
- 31 Rapaport I., Pepino A. T., Dietrick W.: Early use of xenografts as a biologic dressing in burn trauma. Amer. J. Surg. 120,144 (1970)
- 32 Rogers B. O., Converse J. M., Silveti A. N.: Preliminary studies on bovine embryo skin grafts. Transplant. Bull. 4,24 (1957)
- 33 Rogers B. O., Converse J. M.: Bovine embryo skin zoografts as temporary biologic dressings for burns and other skin defects. Plast. reconstr. Surg. 22,471 (1958)

- 34 Seinfeld H., Brendel W.: Transplantation ohne Immunsuppression. Langenbecks Arch. klin. Chir. 322,1173 (1968)
- 35 Seinfeld H., Brendel W., Bohmert H.: Nucleic acids as immunosuppressive adjuvant in xenogeneic grafts for extensive burns. Transact. of the Fifth Internat. Congr. of Plast. reconstr. Surg., p. 717. Sidney: Butterworths 1971
- 36 Seinfeld H., Brendel W., Bohmert H.: Fetal calf skin and nucleic acids in the surgical treatment of extensive burns. Transact. of the Third Internat. Congr. in Burns, p. 277. Bern: Huber 1971
- 37 Seinfeld H., Brendel W.: Prolonged function of xenogenic kidneys after perfusion with an unspecific RNA. Europ. Surg. Res. 1,219 (1969)
- 38 Silvetti A. H., Cotton C., Vyrne R. J., Berrian J. H., Fernandez Mendez A.: Preliminary experimental studies of bovine embryo skin grafts. Transplant. Bull. 4,25 (1957)
- 39 R. L. Simmons M. D., A. W. Moberg M. D., R. Condit P. D., J. S. Najarian M. D.: Prolongation of Skin Allografts in Man Using Antilymphoblast Globulin. ALG-Therapy and Standardization Workshop Bad Soden, p. 149, Behring Institute Mitteilungen 51 (1972)
- 40 Sokolic J. H., Farpour A., Ulin A. W., Howard J.: The use of heterograft skin as a biological dressing. Surg. Forum 10,487 (1959)
- 41 Wanke M.: Kollagen-Schaumfolien als temporärer Hautersatz. Mschr. Unfallheilk. 69,501 (1966)

Lebenslauf

Am 6. Juli 1945 wurde ich in Bevensen als Tochter von Frau Inge Wiechers geboren.

Mein Vater ist seit dem Kriegsende vermisst. Eintritt in die Volksschule in Lüneburg 1952. Im Jahre 1954 zogen wir nach Fürstenfeldbruck. Hier besuchte ich in den Jahren 1956 bis 1966 das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium und machte mein Abitur.

Zum Wintersemester 1966/67 begann ich mit dem Studium der Biologie mit dem Ziel, im Fach Genetik zu promovieren.

Aus persönlichen Gründen entschloss ich mich 1968, mich doch um einen Studienplatz in Humanmedizin zu bewerben. Beginn des Studiums im Sommersemester 1968; in diesem Semester legte ich das Vorphysikum mit der Note gut ab.

1970 bestand ich das Physikum mit der Note gut. Das medizinische Staatsexamen machte ich im Jahre 1974, ebenfalls mit der Note gut. Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit erhielt ich im Jahre 1976 die Approbation als Ärztin.

Mit den experimentellen Studien zu dieser Promotionsarbeit begann ich im Sommersemester 1970.

Ich habe vor, mich auf das Fach Dermatologie zu spezialisieren. Zur Zeit arbeite ich in einer allgemeinärztlichen Praxis mit und widme mich der Fertigstellung dieser Arbeit.

